

病理検査部門

精度管理事業担当者：松井 竜三（名古屋市立大学病院 診療技術部 臨床検査技術科 病理検査係）

実務分担者：鈴木健太郎（社会医療法人大雄会 総合大雄会病院 医療技術部 技術検査科）

林 直樹（医療法人豊田会 刈谷豊田総合病院 臨床検査・病理技術科）

柚木 浩良（公立陶生病院 病理診断科）

I. はじめに

本年度は、病理検査における基礎的な手技や病理組織学の基礎的事項、日常業務に必要な知識を問うフォトサーベイを実施した。

II. 対象項目

フォトサーベイ（評価対象10問）

III. 参加施設数について

病理検査部門への参加は57施設であった。

IV. 評価基準

設問1～10について評価を設定した。

正解を評価A、不正解を評価Dと設定し評価した。

評価 A	正解	「基準」を満たし、極めて優れている。
評価 D	不正解	「基準」から極めて大きく逸脱し、早急な改善が必要。

V. 調査結果

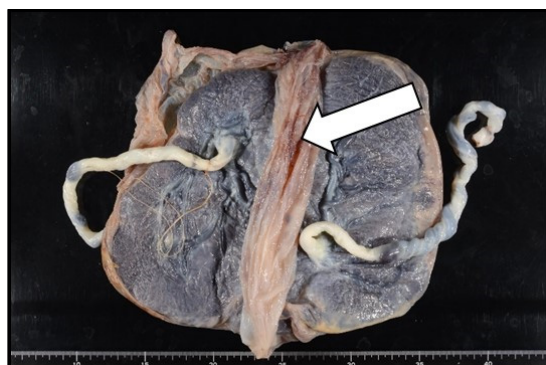
設問1～10の正解および正解率を示した。

	正解	正解率
設問 1	③分離膜	96.5%
設問 2	④固定不良による染色ムラが考えられる。	100%
設問 3	③包埋時の空気の混入	100%
設問 4	③エオジン染色液面の低下	100%
設問 5	③薄切時のコンタミネーション	100%
設問 6	⑤ワンギーソン液の調製不良	91.2%
設問 7	①写真 A は HE 染色像で、写真 B より縫合糸等の異物が考えられる。	96.5%
設問 8	⑤ER(+), E-cadherin(-) より浸潤性小葉癌	98.2%
設問 9	④GATA-3	100%
設問 10	⑤N95 マスクを着用する。	100%

Ⅵ. 解説および考察

【設問1】

固定後の胎盤のマクロ写真です。矢印で示した部位の名称として最も適切なものを選択してください。



- ① 臍帯
- ② 羊膜
- ③ 分離膜
- ④ 分葉膜
- ⑤ 中央膜

	回答施設数	回答率
② 羊膜	2 件	3.5%
③ 分離膜	55 件	96.5%

【正解】

- ③ 分離膜

胎盤とは、妊娠時に子宮内に形成される母体と胎児を連絡する器官で、胎児の発育にとって必須の呼吸、循環、栄養代謝、ホルモン産生を行う。胎盤、臍帯、卵膜の構造や肉眼的所見、炎色の有無などを確認することで病態を検討することができ、胎盤診断へとつなげることができる。

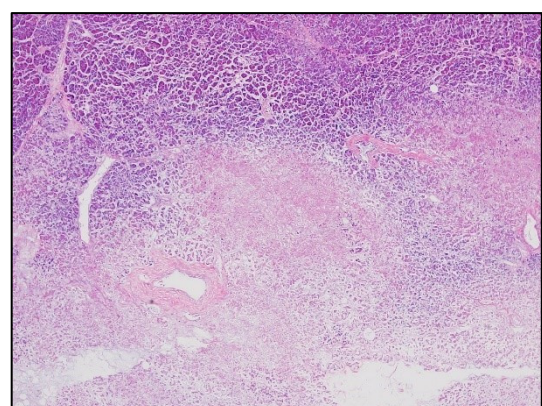
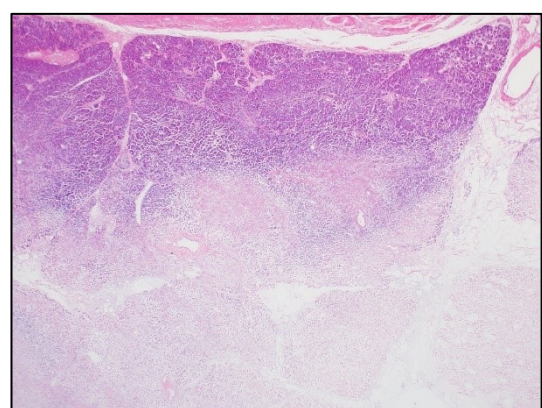
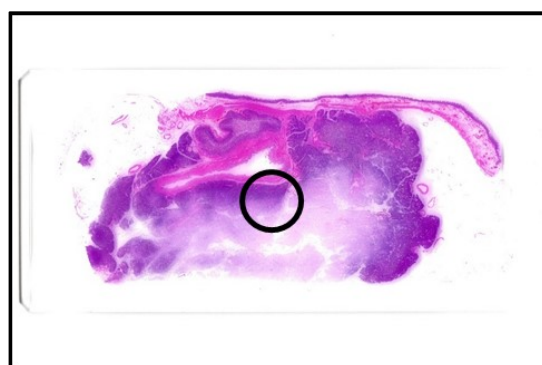
写真の胎盤では、白～灰白色の細長い臍帯が確認できる。2本確認できることから双胎胎盤であると考えられる。写真の左上に羊膜が確認できる。矢印で示す白色の膜が胎盤を二分するように付着しており、それぞれに臍帯が分配されていることから双胎胎盤に特徴的である分離膜と考えられる。双胎胎盤は、2個の胎盤からなる二絨毛膜二羊膜胎盤、1個の胎盤からなる一絨毛膜二羊膜胎盤および一絨毛膜一羊膜胎盤の3通りの形態をとるが、一絨毛膜一羊膜胎盤では分離膜を確認することはできない。

【設問2】

臍臓の切り出し図の一部とHE染色の写真です。

HE染色のルーペ像は切り出し図の白丸部を、HE染色のミクロ像はHE染色のルーペ像の黒丸部を示しています。

図およびHE染色像より、染色結果の解釈として最も適切なものを選択してください。



- 1 切片厚が厚過ぎることによる染色ムラが考えられる。
- 2 脱脂不足による薄切不良と染色ムラが考えられる。
- 3 脱パラフィン不足による染色ムラが考えられる。
- 4 固定不良による染色ムラが考えられる。
- 5 石灰化による薄切不良と染色ムラが考えられる。

	回答施設数	回答率
④ 固定不良による染色ムラが考えられる。	57 件	100%

[正解]

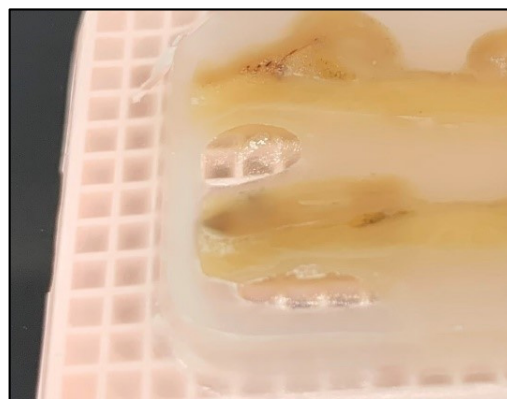
- ④ 固定不良による染色ムラが考えられる。

固定とは、自家融解や細菌による腐敗を停止させること、および組織や細胞の蛋白質を変化させて形態や物質を保存することである。病理組織検査における固定の主たる目的は、自家融解や腐敗の防止、組織、細胞形態の保持、細胞内外の物質の保持、組織に適度な硬度を与える、染色性の向上である。

切り出し図より、検体の断面に赤色からピンク色を呈する箇所が確認でき、固定不良が考えられる。HE 染色ルーペ像より、標本の下部に染色ムラが認められ、染色ムラ部と切り出し図の固定不良な箇所が一致している。HE 染色の拡大像より、ヘマトキシリンによる核染色は認められず細胞質のみがエオジンにより薄く染色されていることが分かる。以上より、固定不良による染色ムラと考えられる。

【設問3】

薄切後のパラフィンプロックの写真です。この現象が生じた原因として最も適切なものを選択してください。



- 1 ブロックの過度な冷却
- 2 面出し不足
- 3 包埋時の空気の混入
- 4 包埋皿の加熱不足
- 5 パラフィンの加熱不足

	回答施設数	回答率
③ 包埋時の空気の混入	57 件	100%

[正解]

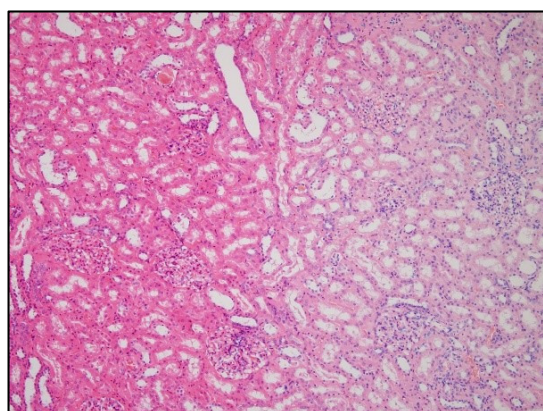
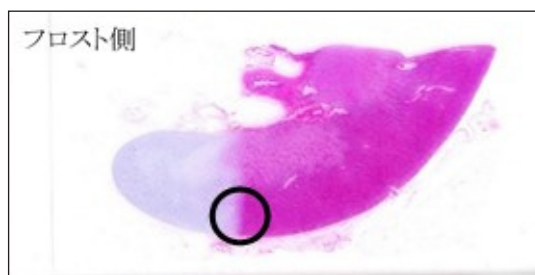
- ③ 包埋時の空気の混入

パラフィンプロックは、薄い切片や連続切片の作製を容易に行うことができ、半永久的に保存ができるため現在多くの施設で汎用されている。

写真よりパラフィンプロック内に穴が空いていることが分かる。これは包埋時の包埋皿とカセットを合わせる際に、空気が混入したためである。本設問のように、薄切途中で穴が空いてしまった場合一定の厚さでの切片の作製や連続切片の作製が困難となるほか、パラフィンプロックの強度が不十分となることがある。空気の混入に注意して包埋すること、十分量のパラフィンを用いて包埋することで避けることができる。

【設問4】

日々の精度管理用に毎朝染色を行っているHE染色のルーペ像と黒丸部のミクロ像の写真です。この染色結果となった原因として最も適切なものを選択して下さい。



- 1 水栓の開け忘れ
- 2 ヘマトキシリン染色液面の低下
- 3 エオジン染色液面の低下
- 4 ヘマトキシリン染色液の劣化
- 5 エオジン染色液の劣化

	回答施設数	回答率
③ エオジン染色液面の低下	57 件	100%

[正解]

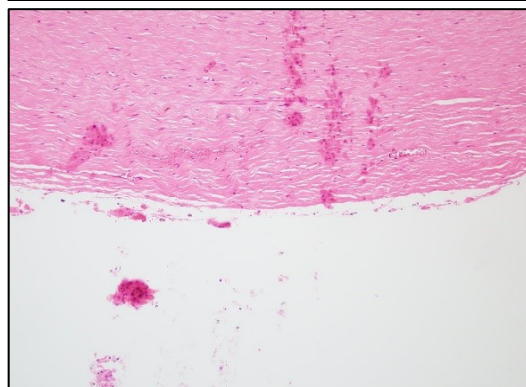
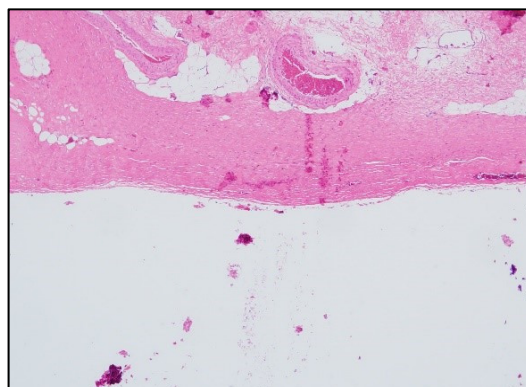
- ③ エオジン染色液面の低下

日常的に染色業務を行う上で、日々の精度管理は染色性を担保するために非常に大切である。また染色不良となった場合、染色性を改善するためにその原因を突き止めるための知識を有していることが重要である。

HE染色ルーペ像より、フロスト側に染色不良を認め、縦に直線的になっていることが分かる。HE染色ミクロ像より、左側は正常に染色されている。一方、中央から右側では核は染色されているがエオジンは染色されていないことが分かる。このことから、染色不良の原因はエオジンであると考えられる。HE染色ルーペ像のエオジンの染色不良が直線的であることから、エオジン染色液の液面に一致すると考えられる。以上より、本設問の染色不良の原因はエオジン染色液面の低下によるものである。

【設問5】

アーチファクトが生じたHE染色の写真です。この原因として最も適切なものを選択してください。



- 1 切り出し時のコンタミネーション
- 2 包埋時のコンタミネーション
- 3 薄切時のコンタミネーション
- 4 メス傷による切片の剥がれ
- 5 チャタリング

	回答施設数	回答率
③ 薄切時のコンタミネーション	57 件	100%

[正解]

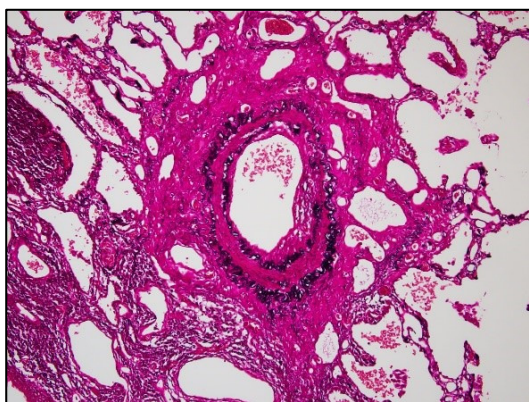
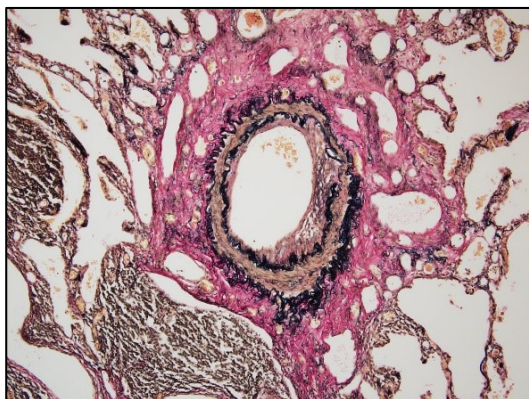
- ③ 薄切時のコンタミネーション

薄切は、良好な標本作製のために非常に重要な手技の一つである。薄切時のアーチファクトは様々であり、その原因と改善方法を理解することが大切である。

写真より、ゴミが標本上に付着していることがわかる。写真のゴミは、組織切片上から切片のない部分のスライド上に一方向に向いて付着している。このことから、このアーチファクトは、薄切時にメスの裏側に張り付いていた削りカスがメスを戻すときにパラフィンブロック面上にこすり付けた状態で起きたものであると考えられる。薄切を行う際は、メスに削りカス等が付着していないかを確認し、付着している場合は、ハケ等を用いて清掃してから薄切を行うことが重要である。

【設問6】

EVG(Elastica van Gieson)染色の良好染色像と不良染色像の写真です。染色不良の原因として最も適切なものを選択してください。



- 1 レゾルシン・フクシン液への浸漬不足
- 2 レゾルシン・フクシン液の過度な分別
- 3 鉄ヘマトキシリン液の染色時間超過
- 4 ワンギーソン液の染色時間超過
- 5 ワンギーソン液の調製不良

	回答施設数	回答率
④ ワンギーソン液の染色時間超過	5 件	8.8%
⑤ ワンギーソン液の調製不良	52 件	91.2%

[正解]

- ⑤ ワンギーソン液の調製不良

EVG(Elastica van Gieson)染色は、弾性線維、膠原線維、筋線維を染め分ける結合組織の染色で、弾性線維を黒紫色、膠原線維を赤色、筋線維や細胞質、赤血球を黄色、核を黒褐色に染め分けることができる。

写真より、良好染色像に一致して不良染色像でも弾性線維および細胞の核が良好に染色されていることが分かる。不良染色標本の原因は、良好染色像において黄色に

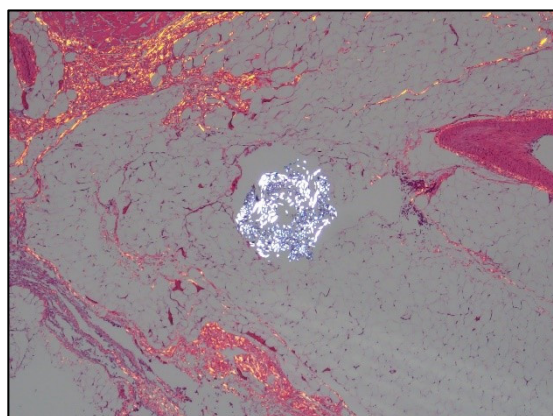
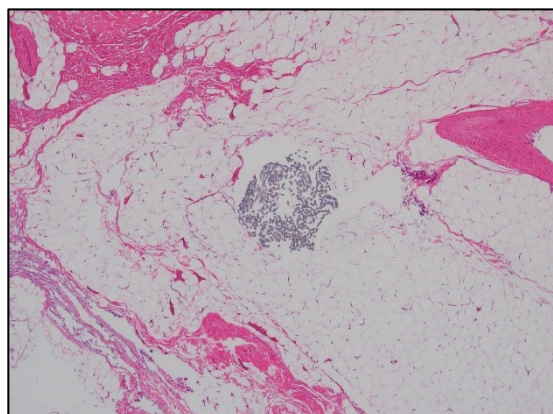
染まるべき部分まで赤色に染まっていることである。黄色と赤色はそれぞれピクリン酸と酸フクシンによって染色された色である。これらを適正に調製してワンギーソン液を作製する。

ワンギーソン液の染色原理は、酸フクシン色素とピクリン酸にある。酸フクシン色素の基本分子骨格はトリフェニルメタン構造で、このトリフェニルメタンは疎水性質をもち、線維の疎水部に強く吸着する性質がある。一方、ピクリン酸は組織中の蛋白質アミノ基や無機金属と反応しピクラートを形成する。ピクリン酸が化学的に蛋白質に吸着することで反応基は不活性となり、酸フクシンの化学的な結合基をマスクすることから疎水相互作用の吸着機構のみがはたらくようになる。これにより膠原線維のような疎水性部を多く含む線維成分に対して酸フクシンが吸着する。このため膠原線維は赤色、筋線維や赤血球は黄色に染め分けることが可能となる。

ワンギーソン液の適正割合は、飽和ピクリン酸：1% 酸フクシン=100 mL：10～15 mLであるが、酸フクシンの割合が多くなると、ピクリン酸が形成したピクラートによる酸フクシンの化学的結合基のマスクが追いつかず筋線維や赤血球に赤色が共染すると考えられる。本設問における染色不良の原因はワンギーソン液である。そのため、ワンギーソン液の割合が適正であれば、ワンギーソン液を長時間浸漬した場合でも写真のような不良染色像とはならない。

【設問7】

写真Aおよび写真Bの染色像とその解釈として最も適切なものを選択してください。(写真Bは偏光顕微鏡下での写真です)



- 1 写真AはHE染色像で、写真Bより縫合糸等の異物が考えられる。
- 2 写真AはHE染色像で、写真Bよりアミロイド沈着が考えられる。
- 3 写真AはDFS(Direct fast scarlet)染色像で、写真Bより縫合糸等の異物が考えられる。
- 4 写真AはDFS(Direct fast scarlet)染色像で、写真Bよりアミロイド沈着が考えられる。
- 5 写真AはPAS反応染色像で、写真Bより真菌集塊が考えられる。

	回答施設数	回答率
① 写真AはHE染色像で、写真Bより縫合糸等の異物が考えられる。	55 件	96.5%
② 写真AはHE染色像で、写真Bよりアミロイド沈着が考えられる。	1 件	1.8%
③ 写真AはDFS(Direct fast scarlet)染色像で、写真Bより縫合糸等の異物が考えられる。	1 件	1.8%

【正解】

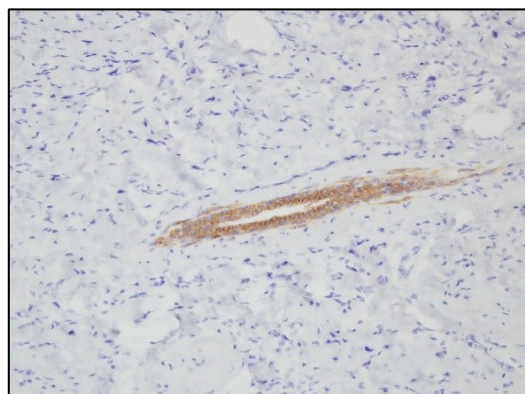
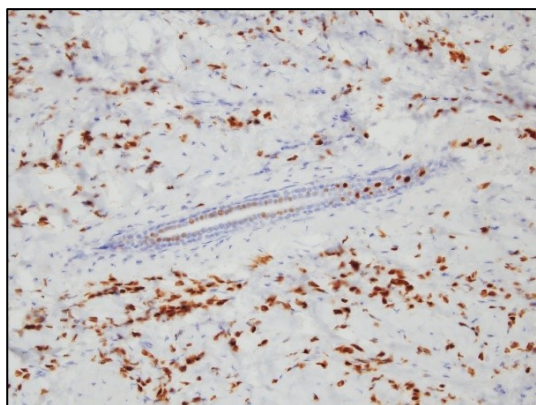
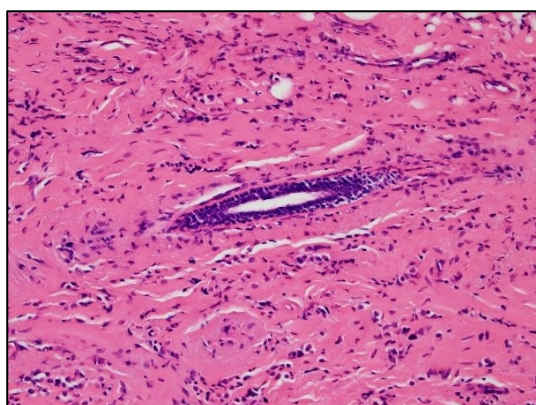
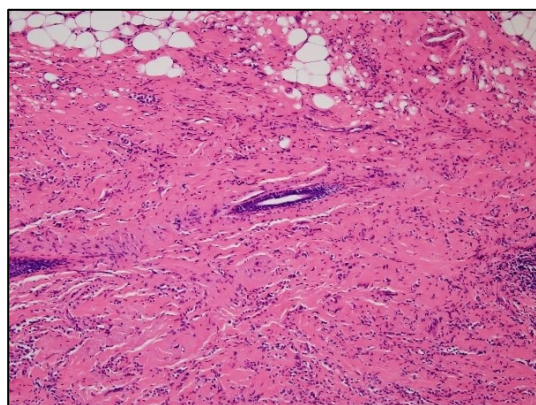
- ① 写真AはHE染色像で、写真Bより縫合糸等の異物が考えられる。

写真Aは、間質が桃色、核が濃紫色に染色されていることからHE染色像である。また、中央に灰白色を呈する物質が観察できる。写真Bは、偏光顕微鏡下での写真であり、中央の物質が重屈折像を呈していることから、縫合糸等の異物であると考えられる。

DFS(Direct fast scarlet)染色は、アミロイドの証明に使用される染色法である。アミロイドはDFS(Direct fast scarlet)染色で橙～赤褐色を呈し、偏光顕微鏡下で緑～黄色を呈する。

【設問8】

乳腺のHE染色と免疫染色の写真です。染色結果の解釈として最も適切なものを選択してください。



- 1 ER(-)、E-cadherin(-)より浸潤性乳管癌(硬性型)
- 2 ER(-)、E-cadherin(+)より浸潤性乳管癌(硬性型)
- 3 ER(+)、E-cadherin(-)より浸潤性乳管癌(硬性型)
- 4 ER(+)、E-cadherin(+)より浸潤性小葉癌
- 5 ER(+)、E-cadherin(-)より浸潤性小葉癌

	回答施設数	回答率
② ER(-)、 E-cadherin(+)より 浸潤性乳管癌(硬性 型)	1 件	1.8%
⑤ ER(+)、 E-cadherin(-)より 浸潤性小葉癌	56 件	98.2%

[正解]

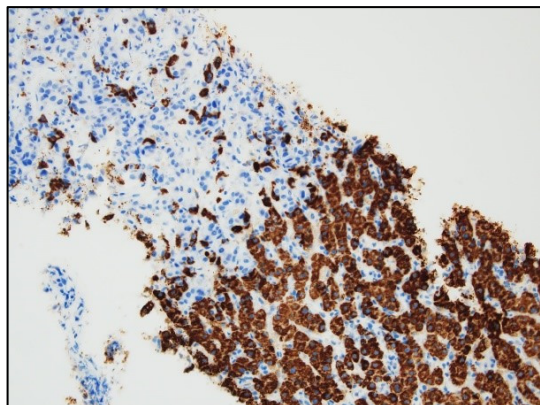
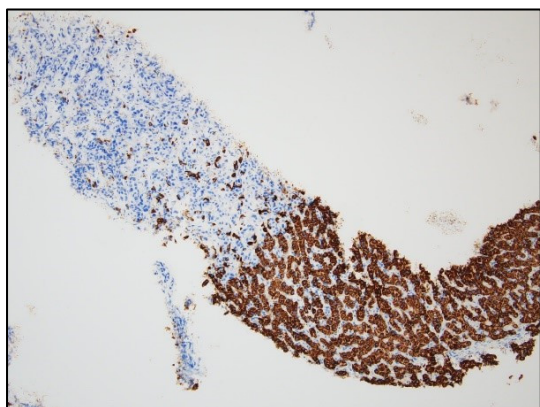
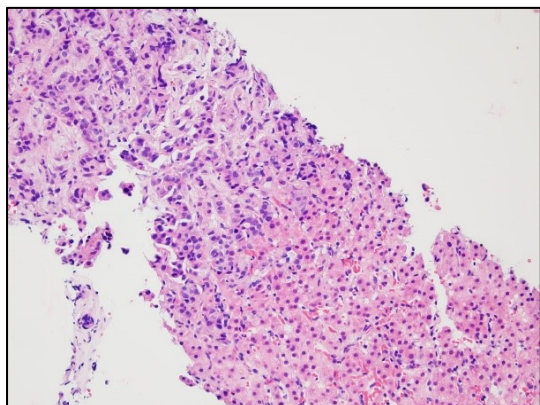
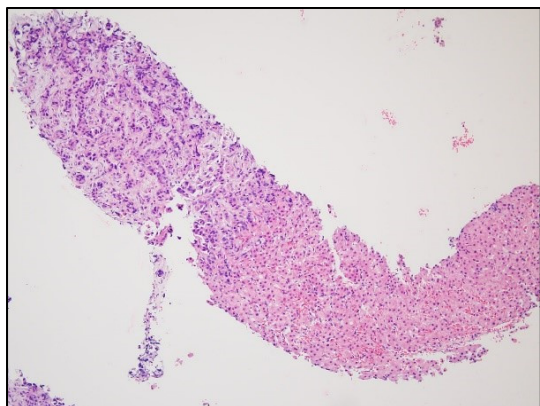
- ⑤ ER(+)、E-cadherin(-)より浸潤性小葉癌

免疫染色は腫瘍組織型の確定、良悪の診断、腫瘍増殖能や患者の予後の判定、コンパニオン診断など、その目的は様々である。そのため、染色結果を正確に理解・判断することが重要である。

HE染色写真より、中央部に乳管を認め、その周りの間質内には核クロマチンの増量した異型細胞を散見する。ER染色写真より、乳管上皮細胞とHE染色の異型細胞に一致して陽性を示す細胞を散見する。また、E-cadherin染色写真より、乳管上皮細胞にのみ陽性を示しHE染色およびER染色に一致した陽性細胞を散見しない。E-cadherinは、乳管癌の一部の症例を除き陽性所見を示すが、小葉癌では常に陰性であるため、乳腺における乳管癌と小葉癌との鑑別に有用である。したがって、ER(+)、E-cadherin(-)より浸潤性小葉癌となる。

【設問9】

乳癌既往のある患者の肝臓生検のHE染色と免疫染色の写真です。原発巣を推定するために、追加で必要となる免疫染色の抗体として最も適切なものを選択してください。



- ① CK5/6
- ② CK7
- ③ P63
- ④ GATA-3
- ⑤ TTF-1

	回答施設数	回答率
④ GATA-3	57 件	100%

〔正解〕

- ④ GATA-3

乳癌既往患者の肝臓生検の原発巣推定では、肝細胞癌か乳癌の転移かを鑑別する必要がある。HE染色より、検体右側は正常な肝細胞よりなり、検体の左側半分には核クロマチンの増量した大型の異型細胞を散見する。Hep par1抗体は、肝細胞の細胞質に陽性を示す抗体で、肝細胞癌であることを確認などに用いられる。Hep par1染色像より、正常な肝細胞に陽性を示し異型細胞には陰性であることが分かる。以上から肝細胞癌が否定的であり、既往を踏まえて乳癌に陽性となる抗体を選択する必要がある。

GATA-3は、転写因子の一つであり、免疫染色では核に陽性となり、乳癌や尿路上皮癌などの鑑別に用いられる。他に、GCDFP-15やmammaglobinも鑑別に有用である。

その他の抗体について説明する。

CK5/6は、重層扁平上皮細胞や尿路上皮細胞、中皮細胞の細胞質に陽性となり、肺扁平上皮癌、中皮腫などの鑑別に有用である。

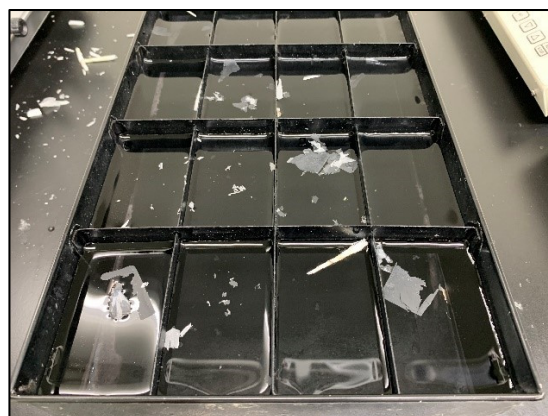
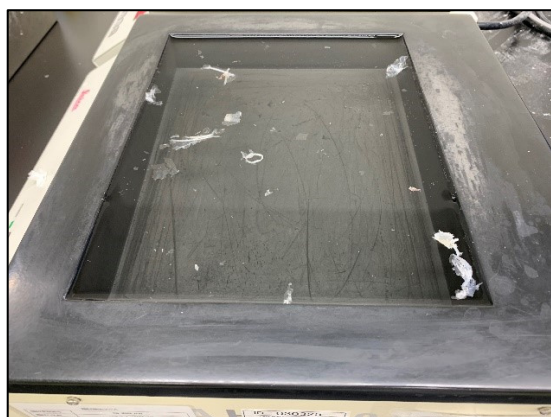
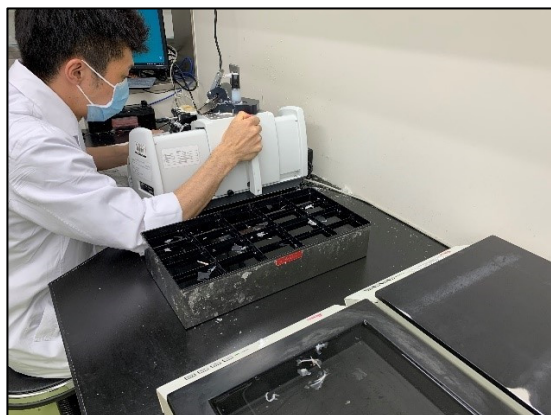
CK7は、多くの扁平上皮細胞と血管内皮細胞の細胞質が陽性となり、CK20と組み合わせて腫瘍細胞の鑑別に有用である。CK7陽性/CK20陰性となる腫瘍として、肺癌、乳癌、胆管癌などがある。

P63は、基底細胞や筋上皮細胞の核に陽性となる。乳腺では、筋上皮細胞の有無により浸潤癌か否かの診断に有用となる。前立腺では基底細胞の有無によりP504SやCK34 β E12と組み合わせて癌か否かの診断に有用となる。

TTF-1は、甲状腺濾胞上皮細胞や肺胞上皮細胞の核に陽性となり、肺原発腫瘍の鑑別に有用である。

【設問10】

遺伝子検査用のホルマリン固定パラフィン包埋ブロックを薄切している様子の写真です。良質な検査結果を得るための改善点のうち、最も不要なものを選択してください。



- 1 ミクロトームを清掃する。
- 2 水槽の水を綺麗なものに交換する。
- 3 恒温槽の温水を綺麗なものに交換する。
- 4 手袋を着用する。
- 5 N95マスクを着用する。

	回答施設数	回答率
⑤ N95 マスクを着用する。	57 件	100%

[正解]

- ⑤ N95マスクを着用する。

遺伝子検査にはホルマリン固定パラフィン包埋組織 (formalin-fixed paraffin embedded tissue ; FFPE) が用いられるが、質の高いDNAを得るために、組織の取り扱いに必要な注意を行った上で作製されたものを使用する必要がある。

本設問は、遺伝子検査の薄切における注意点について問うたものである。「ゲノム診療用病理組織検体取扱い規程」によると、「FFPEブロックの薄切時には、検体ごとにミクロトーム刃を交換するなど、他検体のコンタミネーションに十分注意する。また、グローブを着用するなど、核酸分解防止に努めることが望ましい。」と記されている。設問の写真より、ミクロトーム及び水槽、恒温槽に切片の削りカスが付着・浮遊していることがわかる。これらは、先に述べたコンタミネーションの原因となるため改善しなければならない。また、薄切者は素手で薄切を行い、マスクを装着していることがわかる。手袋及びマスクは核酸分解防止のために必要なものである。マスクは飛沫が切片に付着することを防ぐ目的で使用するため、N95マスク等の微粒子ろ過マスクを使用する必要性はないと考えられる。

VII. まとめ

今回の精度管理調査では、病理組織学の基礎的事項や組織標本作製に関する内容など日常業務に直結するフォトサーベイを実施した。概ね、正解率が90%以上であった。質の高い病理検査を提供するためには、病理組織学の知識と検査技術の向上が臨床検査技師に求められる。フォトサーベイの精度管理調査は、病理検査の精度保証を確立する上で重要な役割を果たしているため今後も継続的な調査が必要である。

VIII. 参考文献

1. JAMT技術教本シリーズ 病理検査技術教本,丸善出版
2. 病理と臨床vol.32臨時増刊号 免疫組織化学 診断と治療選択の指針,文光堂
3. 免疫組織データベースいむ〜の Antibody Database
<http://immuno2.med.kobe-u.ac.jp>
4. 実践病理組織細胞染色カラー図鑑<第三版>,近代出版
5. 免疫染色究極マニュアル,金芳堂
6. 最新染色法のすべて,医歯薬出版株式会社
7. ゲノム診療用病理組織検体取扱い規程,一般社団法人 日本病理学会
8. 周産期医療にかかわる人のためのやさしくわかる胎盤のみかた調べかた,診断と治療社

IX. 問い合わせ先

〒467-8602 愛知県名古屋市瑞穂区瑞穂町字川澄1番地
名古屋市立大学病院 診療技術部 臨床検査技術科
病理検査係
松井 竜三
TEL: 052-858-7381
Mail: pamatsui@med.nagoya-cu.ac.jp